Lane Medical Library

HYGIENISCHES INSTITUT DER UNIVERSITÄT BERLIN

Ueber das Wachstum von Diphtheriebakterien

in synthetischen Nährlösungen unter aeroben, halb anaeroben und streng anaeroben Bedingungen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der zahnärztlich-medizinischen Doktorwürde

an der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin.

Vorgelegt von

CHARLOTTE HÜBSCH,

approb. Zahnärztin

aus Berlin.

Tag der Promotion: 21. April 1936.

97,

Gedruckt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Berlin
Dekan: Professor Dr. Magnus.
Referent: Privatdozent Dr. Ehrismann.
Korreferent: Professor Dr. Zeiss.

I.

In der Literatur finden wir zahlreiche Abhandlungen, die sich mit dem Thema des Verwendungsstoffwechsels der Bakterien befassen. Allgemeine Untersuchungsmethoden hat Braun in seinem Buch „Methoden zur Untersuchung des Verwendungsstoffwechsels pathogener Bakterien" beschrieben. Die Züchtung von Diphtheriebakterien in synthetischen Nährlösungen wurde in den Originalarbeiten von Braun und Mündel in ernährungsphysiologischer Hinsicht dargestellt. Ueber die Brauchbarkeit der synthetischen Nährlösungen für das aerobe und vor allen Dingen das anaerobe Wachstum der Diphtheriebakterien weitere Ergebnisse zu erhalten, war eine interessante Aufgabe. Im Bestreben, sie zu lösen, stellten bereits Braun und Mündel Untersuchungen über die anaerobe Züchtung von Diphtheriebakterien in synthetischen Nährlösungen an; ebenso W. Kollath über das anaerobe Wachstum auf festem Nährsubstrat. Prof. Dr. Kollath berichtet in der Münchener medizinischen Wochenschrift von 4 Fällen maligner Diphtherie, in denen bei den Abstrichen in den ersten Krankheitstagen die aerobe Züchtung der Diphtheriebakterien auf Clauberg oder Löfflerserum versagte. Erst durch anaerobe Züchtung auf Aszitesagar ließen sich in 14 bis 48 Stunden echte Diphtheriebakterien züchten. Abstriche in den späteren Krankheitstagen ergaben bereits spontan aerobe typische Diphtheriestämme. Kollath nimmt an, daß bei maligner Diphtherie die pathogenen Stämme anfangs reine Anaerobier sind, die sich erst im Verlauf der Erkrankung in aerob wachsende, toxinbildende Stämme umwandeln oder von diesen abgelöst werden. Er führt eine Arbeit von Doskocil an, der in 12 Fällen von maligner Diphtherie neben den Diphtheriebakterien regelmäßig anaerobe Bakterien züchten konnte und an die Mitwirkung anaerober Bakterien beim Entstehen einer malignen Diphtherie glaubt. In den von Kollath mitgeteilten Fällen lag klinisch eine sichere maligne Diphtherie vor.

Während in den meisten Fällen eine anaerobe Züchtung auf nicht synthetischem Nährsubstrat nachgewiesen werden konnte, waren die Versuche von Braun und Mündel, Diphtheriestämme anaerob in synthetischen Nährlösungen zu züchten, nicht erfolgreich. Sie gelangten zu dem Ergebnis, daß bei Anwesenheit von Sauerstoff eine Züchtung in Passagen möglich, jedoch unter anaeroben Verhältnissen erfolglos sei, trotzdem die

Zusammensetzung der Nährlösung den ernährungsphysiologischen Bedingungen der Diphtheriebakterien in qualitativer und quantitativer Hinsicht entsprach.

Ich habe mir nun die Aufgabe gestellt, das Wachstum einer bestimmten Anzahl von Diphtheriestämmen in synthetischen Nährlösungen nach von Braun beschriebenen Methoden zunächst unter Zutritt von Sauerstoff zu prüfen und die in diesen Nährlösungen gewachsenen Stämme dann unter halb- bzw. streng anaeroben Bedingungen zum Wachstum zu bringen. Zur Untersuchung kamen 31 Diphtheriestämme, die in jeder Nährflüssigkeit bis zur VI. Passage geprüft wurden. Ich habe diese Stämme von Woche zu Woche teils auf Löfflerserum, teils auf Clauberg überimpft, um sie immer vorrätig zu haben. Die Vergärungsergebnisse und die Einordnung in die für Diphtheriebakterien typischen 3 Gruppen wurden im Hygienischen Institut bestimmt und mir für die folgende Tabelle I zur Verfügung gestellt.

Zu den aeroben Versuchen wurde eine Nährlösung verwendet, wie sie von Braun-Hofmeier angegeben worden ist. Der erste Kolben mit 2 Litern destillierten Wassers enthielt:

KH_2PO_4	1,5	g
K_2HPO_4	3,0	g
Na_2SO_4	10	g
$MgSO_4$	0,10	g
Asparagin	10	g
Natr. lacticum	10	g
Cystin	0,250	g

Dem zweiten Kolben gab ich außerdem 10 g Natriumnitrat bei, um einen eventuellen Unterschied im Wachstum gegenüber dem des ersten Kolbens feststellen zu können. Nach Einstellung der Wasserstoffionenkonzentration auf pH = 7,6 wurden 5 cm^3 der synthetischen Nährlösung in jedes Reagenzröhrchen gefüllt, das dann mit einer Oese des vom Löfflerserum oder Clauberg entnommenen Materials beimpft werden konnte. Das Ergebnis dieser ersten Untersuchung in einer synthetischen Nährlösung, deren Zusammensetzung soeben angegeben wurde und die ich mit I bezeichnen will, zeigt Tabelle II auf Seite 6.

Aus dem Ergebnis geht hervor, daß, abgesehen von sechs Intermedius- und vier Mitistypen 21 der untersuchten Stämme in der Cystin-Asparagin-Natrium-lacticum-Nährlösung aerob gewachsen sind. Der Nitratzusatz hat in zwei Fällen (Stamm 15 012 I und 92 I) das Wachstum verbessert und in ebenfalls zwei Fällen (Stamm 30 III und 17 I) verschlechtert.

Es interessierte nun, die Nährlösung zu variieren und die gleichen Stämme unter den vorerwähnten Bedingungen zu prüfen. Unbedingt nötig zum Wachstum der Diphtheriebakterien sind Cystin, Phosphat und Asparaginat, letzteres als Stickstoff- und Kohlenstoffquelle, während das SO_4- und das Magnesium-Jon entbehrlich sind. Außerdem diente in Nährlösung I als Kohlenstoffquelle Natriumlactat. Statt Asparagin und Natrium lacticum wurden der sonst in gleicher Weise zusammengesetzten Nährlösung asparagin- und essigsaures Natrium beigefügt. Die Salze der

Tabelle I

zeigt die Anzahl der untersuchten Stämme, die Typen, sowie die Traubenzucker-, Stärke- und Dextrinvergärung.

Stamm	11	13	15	17	92	102	76	14841	14305	11645	13153	15012	20	22	24	26	27	28	29	64
Typus	Gravis (I)												Intermedius (II)							
Herkunft des Stammes	Krkhts.-fall	Baz.-trbg.	dto.	Krkhts.-fall	Baz.-trbg.	Krkhts.-fall	./.	Nasen-abstr.	Rachen-abstr.	./.	Rachen-abstr.	dto.	./.	./.	Kr.-fall	./.	./.	./.	./.	./.
Traubenzucker-vergärung	+	+	+	+	+	+	./.	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dextrin-vergärung	+	+	+	+	+	+	./.	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
Stärke-vergärung	+	+	+	+	+	+	./.	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
Tierversuch, 1 oder 2 mal	1×	1×	2×	2×	2×	2×	2×	2×	2×	2×	2×	2×	1×	1×	1×	1×	1×	2×	2×	0

Stamm	14816	12850	12440	13921	15085	13546	14649	30	33	36	82
Typus	Mitis (III)										
Herkunft des Stammes	Wund-di.	Rachen	Nase	Rachen	./.	./.	Nase	Krkhts.-fall	dto.	dto.	Baz.-trbg.
Traubenzucker-vergärung	+	—	—	—	—	./.	+	+	+	+	+
Dextrin-vergärung	—	+	+	+	+	./.	+	—	+	—	—
Stärke-vergärung	—	—	—	—	—	./.	+	—	—	—	—
Tierversuch, 1 oder 2 mal	2×	0	0	0	2×	2×	0	2×	1×	1×	0

Tabelle II

Wachstum von Diphtheriebakterien in Nährlösung I unter aeroben Bedingungen mit und ohne Nitratzusatz

Stamm	Wachstum in Nährlösung I ohne Nitrat VI. Passage	Wachstum in Nährlösung I mit Nitrat VI. Passage	Stamm	Wachstum in Nährlösung I ohne Nitrat VI. Passage	Wachstum in Nährlösung I mit Nitrat VI. Passage
14841 I	sehr stark trüb	sehr stark trüb	26 II	—	—
14305 I	opal	opal	27 II	—	—
11645 I	stark trüb	stark trüb	28 II	mittel trüb	trüb
13153 I	stark trüb	stark trüb	29 II	mittel trüb	mittel trüb
15012 I	schwach opal	mittel trüb	64 II	—	—
11 I	opal	opal	14816 III	opal	opal
13 I	stark trüb	stark trüb	12850 III	—	—
15 I	trüb	trüb	12440 III	—	—
17 I	stark trüb	schwach trüb	13921 III	—	—
92 I	mittel trüb	stark trüb	15085 III	mittel trüb	mittel trüb
102 I	schwach trüb	schwach trüb	13546 III	opal	opal
76 I	trüb	trüb	11649 III	—	—
20 II	—	—	30 III	mittel trüb	opal
22 II	—	—	33 III	schwach trüb	schwach trüb
24 II	—	—	36 III	schwach trüb	schwach trüb
			82 III	—	—

Hierbei bedeutet I = gravis, II = intermedius, III = mitis, — = nicht gewachsen.

Tabelle III

Wachstum von Diphtheriebakterien in Nährlösung II unter aeroben Bedingungen mit und ohne Nitratzusatz.

Stamm	Wachstum in Nährlösung II ohne Nitrat VI. Passage	Wachstum in Nährlösung II mit Nitrat VI. Passage	Stamm	Wachstum in Nährlösung II ohne Nitrat VI. Passage	Wachstum in Nährlösung II mit Nitrat VI. Passage
14841 I	schwach trüb	schwach trüb	27 II	opal	trüb
11645 I	schwach trüb	schwach trüb	28 II	mittel trüb	stark trüb
14305 I	opal, körnig	opal, körnig	29 II	schwach trüb	schwach trüb
13153 I	opal	opal	64 II	stark trüb	opal
15012 I	schwach trüb	schwach trüb	14816 III	mittel trüb	opal
15 I	opal	schwach opal	12850 III	mittel trüb	mittel trüb
17 I	—	—	12440 III	schwach opal	mittel trüb
11 I	mittel trüb	mittel trüb	13921 III	—	—
13 I	mittel trüb	mittel trüb	15085 III	—	—
92 I	schwach trüb	opal	13546 III	opal	schwach trüb
102 I	mittel trüb	mittel trüb	11649 III	—	—
76 I	trüb	trüb	30 III	schwach opal	schwach opal
20 II	—	opal	33 III	stark trüb	stark trüb
22 II	—	—	36 III	schwach opal	schwach opal
24 II	—	—	82 III	mittel trüb	schwach trüb
26 II	—	—			

I = gravis, II = intermedius, III = mitis, — = nicht gewachsen.

Essigsäure dienen als Kohlenstoffquelle für das Wachstum der Diphtheriebakterien bei Anwesenheit von Cystin und asparaginsaurem Natrium. Die Nährflüssigkeit sah also folgendermaßen aus:

Der erste Kolben mit zwei Litern destillierten Wassers enthielt:

K_2HPO_4	3,0	g
KH_2PO_4	1,5	g
Na_2SO_4	10	g
$MgSO_4$	0,10	g
Cystin	0,250	g
asparaginsaures Na	10	g
essigsaures Na	10	g

Außerdem enthielt der zweite Kolben wieder 10 g Natriumnitrat. Die pH-Konzentration wurde auf 7,6 eingestellt. Diese Nährlösung bezeichne ich mit II. Das Ergebnis dieser Untersuchung veranschaulicht Tabelle III.

In dieser Nährlösung sind ein Gravistypus, drei Intermedius- und drei Mitistypen nicht gewachsen. Das Ergebnis ist also mit 24 zum Wachstum gekommenen Stämmen etwas günstiger als das der Nährlösung I. Der Nitratzusatz hat das Wachstum in fünf Fällen (20 II, 27 II, 28 II, 13 546 III und 12 440 III) verbessert und in ebenfalls fünf Fällen (15 I, 92 I, 64 II, 14 816 III und 82 III) verschlechtert.

Nach diesem Ergebnis sind die beiden synthetischen Nährlösungen als gleichwertig für das Wachstum der Diphtheriebakterien anzusprechen. Vier Intermedius- und zwei Mitistypen sind weder in der Nährlösung I noch in II gewachsen. Es ist anzunehmen, daß diese Stämme zu den anspruchsvollen Bakterien gehören, die nicht die Fähigkeit besitzen, sich den schwierigeren Lebensbedingungen in der synthetischen Nährlösung anzupassen, denn die Lebensfähigkeit der Keime ist sowohl von der Natur des Mikroorganismus als auch von der Zusammensetzung des Nährmediums abhängig. Meist ist die Lebensfähigkeit in kohlehydrathaltigen Nährböden wegen der Säurebildung geringer.

Nach Gotschlich, Ehrismann, Clauberg u. a. darf man von Typen nur reden, wenn es sich um Bakterienstämme handelt, die in gewissen Hauptmerkmalen übereinstimmen und dadurch als Angehörige einer Art gekennzeichnet und, soweit sie pathogen sind, ein gleichartiges Krankheitsbild hervorrufen. Schloßberger weist auf Braun und Hofmeier hin, die durch Ueberimpfen von frisch isolierten Diphtheriebakterien auf einen cystinhaltigen synthetischen Nährboden anspruchsvolle und anspruchslose Stämme unterschieden haben.

Es gelang einer Reihe von englischen Forschern, drei verschiedene Kolonieformen nachzuweisen, die bei Weiterzüchtung der Stämme auch auf anderen Nährböden eine beträchtliche Konstanz besitzen. Die auf diese Weise unterscheidbaren Typen waren auch noch durch weitere Merkmale hinsichtlich des Wachstums, der Säurebildung in Bouillon und des Verhaltens gegenüber Kohlehydraten charakterisiert.

Tabelle IV zeigt das teils bessere, teils schlechtere Wachstum der Stämme in Nährlösung I bzw. II.

Tabelle IV

zeigt das teils bessere, teils schlechtere Wachstum der Stämme in Nährlösung I bezw. II.

Besseres Wachstum in Nährlösung I	Besseres Wachstum in Nährlösung II	Wachstum in beiden Nährlösungen gleich	Wachstum weder in N I noch N II
11 645 I	11 I	14 305 I	20 II
15 085 III	33 III	76 I	22 II
13 153 I	13 546 III	15 012 I	24 II
30 III	14 816 III		26 II
36 III	102 I		11 649 III
13 I	27 II		13 921 III
17 I	28 II		
14 841 I	64 II		
15 I	12 850 III		
92 I	12 440 III		
29 II	82 III		

= gravis, II = intermedius, III = mitis.

Wir können laut Tabelle IV feststellen, daß die Gravisstämme in synthetischer Nährlösung unter aeroben Bedingungen am besten gewachsen sind. An zweiter Stelle folgen die Mitistypen, während die Intermediustypen das ungünstigste Wachstum zeigten. —

Ich habe nach jeder Passage Präparate angefertigt. Die Diphtheriebakterien waren kurz, kolbig, ziemlich dick; sie zeigten auch vereinzelt kolbige und verzweigte Wuchsformen, wie sie durch Babes und Neißer bekannt sind, jedoch nur als ziemlich seltener Befund, den man im Sinne von Involutionsformen deutete. Fränkel konnte derartige Formen bei vielen Diphtheriekulturen nachweisen; ebenso haben Schütz, Hill, Abbott u. a. ähnliche Resultate auf verschiedenen, aber festen Nährsubstraten gesehen. Die Neigung zum Auftreten verzweigter und kolbiger Formen bei Diphtheriestämmen unter verschiedenen Ernährungsbedingungen ist in jedem Falle eine andere. Im Tierkörper treten diese Formen nicht auf, doch konnten sie in diphtherischen Pseudomembranen von Bernheim und Folger nachgewiesen werden. Derartige Formen stellen wahrscheinlich keine Degenerationserscheinungen, sondern besondere Wuchsformen dar. Spirig und Cache beschreiben in eiweißfreier Nährlösung Diphtheriekulturen, bei denen die Vermehrung durch echte Verzweigungen zur Norm geworden war. Auch die Toxinbildung ist bei solchen Stämmen mit Verzweigungen intakt Im letzten Falle handelte es sich also auch um Kulturen, die in einer Nährlösung gezüchtet waren. Im Gegensatz zu diesen Verzweigungen kann man aber wohl die im Präparat häufig festzustellenden punktförmigen Gebilde als Degenerationsformen der Diphtheriebakterien ansprechen.

Die Virulenz und die Fähigkeit, Toxine zu bilden, können sich in synthetischen Nährlösungen erhalten. Die Diphtheriebakterien produzieren nach H. Braun: „Allgemeines über den Verwendungsstoffwechsel pathogener Bakterien" im Cystin-Asparaginsäure-Acetat-Nährboden ge-

ringe Giftmengen. Das Aussehen der Diphtheriebakterien wird durch das Wachstum auf dem Nährboden von Clauberg verändert. Mehrmalige Passage über Löffler läßt die ursprüngliche Form wieder entstehen. Bei Ansetzen eines Tierversuches zur Virulenzprüfung ist deshalb die Reinkultur vom Löffler-Nährboden zu bevorzugen. Ich habe — vgl. Tabelle V — die Virulenz für Meerschweinchen der in der Nährlösung I gewachsenen Stämme geprüft. Zur Verwendung kamen junge Meerschweinchen von etwa 250 bis 300 g Gewicht. Die Meerschweinchen erhielten entweder eine Oese einer 24 Stunden auf Löfflerserum gewachsenen und in 2,0 cm^3 physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmten Kultur oder 2,0 cm^3 der VI. Passage eines in der Nährlösung I gewachsenen Stammes subcutan injiziert. Sechs Stämme habe ich nicht auf ihre Pathogenität für Meerschweinchen prüfen können, weil sie in der Nährlösung I aerob nicht gewachsen sind.

Nicht geprüft wurden sechs Stämme:

64 II
12 850 III
12 440 III
13 921 III
11 649 III
82 III

wegen Nichtwachstums in der Nährlösung I. Ich habe in Fällen, in denen das mit der 24 Stunden auf Löfflerserum gewachsenen Kultur geimpfte Tier am Leben blieb, keinen Tierversuch mit der VI. Passage dieser Kultur gemacht. Das waren die Stämme:

11 I
13 I
26 III
33 III.

Selbstverständlich konnte bei den Stämmen, die sich in der Nährlösung I nur bis zur II., manchmal auch bis zur III. Passage züchten ließen, der Tierversuch nur mit der frischen Kultur, also einmal, gemacht werden. Es waren das:

20 II
22 II
24 II
26 II
27 II.

Von den übrigen untersuchten Stämmen waren neun für Meerschweinchen sowohl vor wie nach der Züchtung in synthetischen Nährmedien nicht pathogen; davon drei Gravis-, eine Intermedius- und fünf Mitistypen.

Bei acht Stämmen war die Virulenz nach der VI. Passage verringert. Die Tiere blieben am Leben oder starben später als nach der Injektion mit dem frisch vom Löfflerserum entnommenen Material. Zwei Stämme zeigten eine nach der VI. Passage vergrößerte Virulenz, die aber wohl darauf zurückzuführen ist, daß die Bakterienanzahl in den 2 ccm der

Tabelle V

Virulenzprüfungen der Stämme durch Meerschweinchen.

Stamm	Datum der Einspritzung	Alter der Kultur	Menge der inje. Kult. in ccm	Nr. des Tieres	Resultat der Injektion	Sektionsbefund
30 III	21. IX. 35	24 Std.	1	200	tot nach 3 Tagen.	Pleuraexsudat, Hyperämie und leichte Vergrößerung der Nebennieren.
30 III	23. VIII. 35	14 Tage (VI. Pass.)	2	469	Tier bleibt gesund.	Kein Ergebnis.
11 645 I	11. IX. 35	24 Std.	1	203	Kleine Quaddel a. d. Injektionsstelle. Verschwindet nach einigen Tagen. Tier bleibt munter.	—
11 645 I	30. VIII. 35	14 Tage (VI. Pass.)	2	162	Tier bleibt gesund.	—
15 085 III	11. IX. 35	24 Std.	1	205	Tier bleibt gesund.	—
15 085 III	4. IX 35	14 Tage (VI. Pass.)	2	475	Tier bleibt gesund.	—
13 153 I	11. IX.	24 Std.	1	204	Tier bleibt gesund.	—
13 153 I	4. IX.	14 Tage (VI Pass.)	2	469	tot nach 2 Tagen.	Pleuraexsudat. Stark gerötete u. vergrößerte Nebennieren.
36 III	20. VI.	24 Std.	1	198	2 Mk.-Stck. große, umschriebene Verhärtung, Haut darüber nicht verschieblich. Später keine Nekrose. Tier bleibt am Leben.	Kein Ergebnis.
11 I	20. VI. Kein Versuch mit VI. Pass., da Tier nach dem 1. Vers. am Leben geblieben.	24 Std.	1	140	50-Pfg.-Stck. große Verhärtung mit Ulceration in der Mitte. Schorf fällt 6 Tage später ab. Tier bleibt munter.	Kein Ergebnis.
13 I	20. VI. Kein Versuch mit Pass. Vl. S. ob.!	24 Std.	1	199	2-Mk.-Stck. große Verhärtg. In der Mitte Beginn einer Ulceration. Schorf fällt nach 5 Tagen ab. Vernarbung. Tier bleibt munter.	Kein Ergebnis.
33 III	20. VI. Kein Versuch mit Pass. VI. S. ob.!	24 Std.	1	197	In der Mitte leichte Verhärtung. Haut darüber verschieblich. Tier munter. Nach 5 Tagen verschwindet Verhärtung.	Kein Ergebnis.
17 I	27. VI.	24 Std.	1	481	tot nach 2 Tagen.	Starkes Ödem a.d. Inf.-Stelle, blutiges Exsudat der Bauchhöhle, Nebennieren dunkelrot, Rötg. d. kleinen Curvatur des Magens.
17 I	30. VI.	14 Tage (VI. Pass.)	2	405	tot nach 3 Tagen.	Pleuraexsudat. Starke gerötete Nebennieren.
14 841 I	24. VII.	24 Std.	1	113	tot nach 24 Std.	An der Inj.-Stelle hämorhagisches Infiltrat. Hyperämie u. leichte Vergrößerg. d. Nebennieren.
14 841 I	30. VII.	14 Tage (VI. Pass.)	2	439	tot nach 2 Tagen.	Pleuraexsudat. Gerötete und vergrößerte Nebennieren.
13 546 III	20. VIII.	24 Std.	1	490	Tier bleibt gesund.	Kein Befund.
13 546 III	14. VIII.	14 Tage (VI. Pass.)	2	491	Tier bleibt gesund.	Kein Befund.
15 012 I	24. VII.	24 Std.	1	498	tot nach 24 Std.	Infiltrat an der Inj.-Stelle. Gerötete Nebennieren.
15 012 I	30. VII.	14 Tage (VI. Pass.)	2	485	tot nach 2 Tagen.	Pleuraexsudat. Gerötete Nebennieren.

I = gravis, II = intermedius, III = mitis.

Fortsetzung Tabelle V

Virulenzprüfungen der Stämme durch Meerschweinchen.

Stamm	Datum der Einspritzung	Alter der Kultur	Menge der injic. Kult. in ccm	Nr. des Tieres	Resultat der Injektion	Sektionsbefund
14305 I	30. VII.	24 Std.	1	488	tot nach 2 Tagen.	Leichtes Infiltrat a. d. Inj.-Stelle. Gerötete u. etw. vergrößerte Nebennieren.
14305 I	29. VIII.	14 Tage (VI. Pass.)	2	499	tot nach 3 Tagen.	Gerötete Nebennieren. Leichtes Pleuraexsudat.
14816 III	20. VIII.	24 Std.	1	460	Tier bleibt gesund.	Kein Befund.
14816 III	14. VIII.	14 Tage (VI. Pass.)	2	461	Tier bleibt gesund.	Kein Befund.
15 I	20. VI.	24 Std.	1	139	tot nach 5 Tagen.	Geringes Infiltrat an der Inj.-Stelle. Gerötete Nebennieren.
15 I	23. VIII.	14 Tage (VI. Pass.)	2	468	tot nach 5 Tagen.	Starkes Oedem a. d. Inj.-Stelle. Pleuraexsudat. Nebennieren gerötet u. vergrößert.
76 I	29. VIII.	24 Std.	1	489	tot nach 2 Tagen.	Gerötete Nebennieren.
76 I	21. VIII.	14 Tage (VI. Pass.)	2	452	tot nach 4 Tagen.	Leichtes Pleuraexsudat. Gerötete Nebennieren.
102 I	29. VIII.	24 Std.	1	467	tot nach 2 Tagen.	Gerötete Nebennieren.
102 I	21. VIII.	14 Tage (VI. Pass.)	2	451	tot nach 4 Tagen.	Gerötete Nebennieren.
92 I	11. IX.	24 Std.	1	162	tot nach $3^1/_2$ Tagen.	Sulziges Oedem a. d. Inj.-Stelle, leichtes Pleuraexsudat, gerötete Nebennieren.
92 I	30. VIII.	14 Tage (VI. Pass.)	2	161	Leichte Verhärtg. i. Durchmesser von 5 cm mit Nekrose im Zentrum. Nach 7 Tagen fällt Schorf ab. Tier munter.	Kein Befund.
20 II	5. VII.	24 Std.	1	302	tot nach 2 Tagen.	Geringes Pleuraexsudat. Etwas vergrößerte u. gerötete Nebennieren.
Kein Versuch mehr, da kein Wachstum in Nährlösung I.						
22 II	27. VI.	24 Std.	1	433	tot nach 2 Tagen.	Stark gerötete Nebennieren.
Kein Versuch mehr, da kein Wachstum in Nährlösung I.						
24 II	20. VI.	24 Std.	1	178	5-Mk.-Stck. große Verhärtg. mit verschiebl. Haut. Tier bleibt munter.	Kein Befund.
wie vor!						
26 II	5. VII.	24 Std.	1	304	tot nach 2 Tagen.	Seröses Exsudat der Bauchhöhle, stark gerötete Nebennieren.
wie vor!						
27 II	5. VII.	24 Std.	1	303	tot nach 4 Tagen.	Gerötete Nebennieren.
wie vor!						
28 II	5. VII.	24 Std.	1	305	tot nach 2 Tagen.	Sanguinolentes Pleuraexsudat. Gerötete u. vergrößerte Nebennieren.
28 II	9. X.	14 Tage (VI. Pass.)	2	204	tot nach 2 Tagen.	Pleuraexsudat. Gerötete Nebennieren.
29 II	5. VII.	24 Std.	1	302	tot nach 4 Tagen.	Starke Hyperämie d. Nebennieren.
29 II	20. IX.	14 Tage (VI. Pass.)	2	162	tot nach 2 Tagen.	Infiltrat an der Inj.-Stelle. Starke Hyperämie d. Nebennieren.

I = gravis, II = intermedius, III = mitis.

VI. Passage größer war als in den 2 ccm der beim ersten Versuch injizierten Flüssigkeitsmenge.

Bei zwei Stämmen blieb die Virulenz in beiden Fällen vor und nach der VI. Passage die gleiche.

Zusammenfassung des I. Teils.

I. Diphtheriebakterien wachsen unter Zutritt von Sauerstoff in einer von Braun angegebenen synthetischen Nährlösung, der einmal Cystin, Asparagin und Natriumlactat, im zweiten Falle außer Cystin asparagin- und essigsaures Natrium beigegeben waren.

II. Der Zusatz von Natriumnitrat zu einer der beiden Nährlösungen beeinflußt das Wachstum der Bakterien weder vorteilhaft noch ungünstig.

III. Die Pathogenität der Diphtheriebakterien für Meerschweinchen war bei 16 zweimal geprüften Stämmen nach sechs Passagen in einer synthetischen Nährlösung in acht Fällen verringert. Hierbei ist abzusehen von neun Stämmen, die nur einmal geprüft werden konnten, weil sie entweder in N I nicht gewachsen waren oder nicht tierpathogen wirkten, so daß im ganzen also der Tierversuch bei 25 Stämmen in Anwendung gekommen ist.

IV. In synthetischen Nährlösungen wuchsen unter aeroben Bedingungen am besten die Gravis-, dann die Mitistypen; während die Intermediustypen das schlechteste Wachstum zeigten.

II.

Wie bereits erwähnt, haben Braun und Mündel ein Wachstum der Diphtheriebakterien im Asparaginsäure-Cystin-Traubenzucker-Nährboden (nach den Autoren) unter anaeroben Bedingungen nicht erzielen können. Daher habe ich als II. Teil meiner Arbeit versucht, die Diphtheriebakterien in teils gleichen, teils qualitativ etwas veränderten Nährflüssigkeiten einmal unter halb-, einmal unter streng anaeroben Bedingungen zum Wachstum zu bringen. Diese Versuche mit den einzelnen, jedesmal veränderten Nährlösungen werde ich später in einer Tabelle darstellen.

Die Nährlösung I (Cystin-Asparagin-Natriumlactat) wurde zunächst auf die bekannte Art zusammengesetzt und sterilisiert. Ich habe die Flüssigkeit dann so hoch in Reagenzröhrchen gefüllt, daß sie von dem Wattestopfen gerade noch berührt wurde. Nach Beimpfung der Röhrchen wurden die Stopfen so weit hineingedrückt, daß sie mit dem oberen Rande der Röhrchen abschlossen. Nach dem Erhärten eines Aufgusses von heißem Paraffin kamen die Röhrchen für 48 Stunden in den Brutschrank. Wenn durch diese Paraffinschicht dem Sauerstoff auch der Zutritt zur Nährflüssigkeit verwehrt wurde, so kann man doch nur von einem halb anaeroben Wachstum sprechen, denn das zwar kurze Oeffnen der Röhrchen zur Beimpfung ließ immer noch genügend Sauerstoff zu, den

die Diphtheriebakterien bei ihrem für jede Passage 48stündigen Aufenthalt im Brutschrank zum Wachstum ausnutzen konnten.

Von den 31 Stämmen sind in der Nährlösung I unter halb anaeroben Bedingungen 15 bis zur VI. Passage gewachsen. Das waren 8 Gravis-, 2 Intermedius- und 6 Mitistypen. Die später folgende Tabelle VIII wird das besser veranschaulichen.

Ich habe auch die Nährlösung II (Cystin, asparagin- und essigsaures Natrium) geprüft, aber nicht, wie eben geschildert, halb, sondern streng anaerob in folgender Weise:

Die Röhrchen wurden in der gleichen Art gefüllt, sterilisiert und beimpft. Dann stellte ich sie in einen Exsikkator, dessen oberer Teil mit nach innen gehender Stufe zur Aufnahme einer mit Fließpapier belegten Drahtplatte versehen ist. Diese Platte teilt das Gefäß und dient als Unterlage für die beimpften Röhrchen. Nach der viertelstündigen Durchleitung von Stickstoff erfolgt Einfüllung von Kalilauge in den unteren, mit Pyrogallol beschickten Teil des Exsikkators. Nach Herstellung anaerober Bedingungen bleibt der Exsikkator mit den Röhrchen 48 Stunden im Brutschrank.

Dieser Versuch, in der Nährlösung II Diphtheriebakterien anaerob zu züchten, ist nicht gelungen. Beide Male wurde, sowohl der Nährflüssigkeit I zum halb, als auch der Nährflüssigkeit II zum streng anaeroben Versuch, Natriumnitrat zum Vergleich beigegeben. Es blieb aber ohne jede Wirkung auf das Wachstum.

Beim nächsten Versuch habe ich wieder Nährlösung II als Ausgangspunkt genommen. Die Lösung wurde variiert, indem ich Cystëin statt Cystin das erste-, Cystëin und Natriumnitrat das zweitemal nahm. Frei und Riedmüller verwendeten Cystëin bei derAnaerobierzüchtung (Zbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. 119, 1930):

„Wenn obligat anaerobe Mikroorganismen bei Luftsauerstoffzutritt gezüchtet werden sollen, muß der Sauerstoff unschädlich gemacht werden durch mechanische oder chemische Entfernung. Reduzierende Substanzen, die in Form von Ernährung begünstigend auf die Mikroorganismen einwirkten, sind Cystëin, Glutamin-, Bernsteinsäure. Es gelingt, durch Zusatz von Cystëin anspruchsvolle obligate Anaerobier ohne besondere Maßnahmen zur Entfernung des Sauerstoffs zu züchten."

Im ersten Fall war also die Nährlösung folgendermaßen zusammengesetzt:

KH_2PO_4	1,5	g
K_2HPO_4	3,0	g
Na_2SO_4	10	g
$MgSo_4$	0,10	g
essigsaures Na	10	g
asparaginsaures Na	10	g
Cystëin	0,250	g

Im zweiten Fall gab ich zu 2 Litern Nährlösung noch 10 g Natriumnitrat. Auch dieser Versuch ergab kein streng anaerobes Wachstum, trotz mehrfacher Wiederholung, weder mit noch ohne Natriumnitratzusatz.

Ich habe mit drei Anaerobiern:

Bacillus botulimus,
Para-Rauschbrand,
Fraenkel

Kontrollversuche ausgeführt. Diese drei Stämme wurden geprüft:

1. in einer Bouillon, der
   a) 0,2 Cystëin ad 100 und
   b) 0,02 Cystëin ad 100 zugesetzt waren.

Nach positivem Wachstum bis zur VI. Passage untersuchte ich, ob in der

2. Nährlösung I (Asparagin-Cystin-Natriumlactat)
   a) mit Natriumnitrat und
   b) ohne Zusatz von Natriumnitrat

ein Wachstum stattfand. Dies war der Fall. Demnach könnte man annehmen, daß diese Nährflüssigkeit auch für das Anaerobierwachstum günstig sei, trotzdem sie Cystin und nicht Cystëin enthielt. Nach unseren bisherigen Kenntnissen über die Physiologie der Anaerobier (vgl. J. H. Quastel und M. Stephenson) ist wohl anzunehmen, daß in unseren Versuchen das Cystin von den Bazillen selbst zu Cystëin reduziert wurde.

Die streng anaeroben Versuche mit Diphtheriebakterien zeigten also bisher keine positiven Ergebnisse. Auch in der zuletzt genannten Nährlösung mit Cystin wuchsen die Diphtheriebakterien im Gegensatz zu den genannten Anaerobiern nicht.

Nun wurde die Nährlösung II wiederum variiert, und zwar verwandten wir nach den Angaben Quastels ein Gemisch von Bernstein- und Fumarsäure, so daß die Nährlösung folgende Zusammensetzung hatte:

Auf 2 Liter Lösung

KH_2PO_4	1,5	g
K_2HPO_4	3,0	g
$MgSO_4$	0,10	g
Na_2SO_4	10	g
essigsaures Na	10	g
asparaginsaures Na	10	g
Cystëin	0,5	g
Fumarsäure	5	g
Bernsteinsäure	5	g.

Ebenso, nur ohne Cystëin, wurde der zweite Kolben zusammengesetzt. Bei diesen Versuchen waren einige Erfolge zu verzeichnen.

In der Nährlösung mit Cystëinzusatz, wie sie Tabelle VI veranschaulicht, sind also sieben Stämme gewachsen, während in der ohne Cystëinzusatz (Tabelle VII) nur ein Stamm, 13 153 I, der auch mit Cystëinzusatz wuchs, bis zur IV. Passage anaerob verfolgt werden konnte. Die Präparate sahen folgendermaßen aus:

Stamm 36: Vereinzelte kolbige kurze Stäbchen. Teilweise punktförmig degenerierte Formen.

Stamm 11: Schlanke, dünne Stäbchen, teilweise in Haufen zusammengeballt, auch vereinzelt in V- und Fingerform. Hier wie beim aeroben Präparat verzweigte Wuchsformen.

Tabelle VI

Anaerobe Züchtung von Diphtheriebakterien in Nährlösung II mit Cystëin, Fumarsäure und Bernsteinsäure.

Stamm	I. Pass.	II. Pass.	III. Pass.	IV. Pass.
14 305 I +	trüb	trüb	schwach trüb	opal, + flockig
13 921 III	stark trüb	schwach trüb	schwach trüb	klar
11 645 I	opal	klar	—	—
12 440 III +	opal	schwach opal	opal	opal +
14 816 III +	opal	opal	opal	opal +
13 153 I +	trüb	trüb	schwach trüb	schw. trüb +
11 649 III +	opal	opal	opal	opal +
13 I	trüb	schwach trüb	opal	klar
15 I	schwach trüb	schwach trüb	opal	klar
17 I	trüb	opal	opal	klar
30 III	stark trüb	opal	schwach opal	klar
11 I +	opal	körnig. Satz	opal	körnig. Satz +
92 I	schwach trüb	schwach trüb	opal	klar
24 II	mitteltrüb	schwach trüb	schwach opal	klar
36 III +	stark trüb	stark trüb	schwach trüb	körnig. Satz +
64 II	schwach trüb	schwach trüb	schwach opal	klar
20 II	trüb	schwach trüb	schwach opal	klar
22 II	mitteltrüb	opal	schwach opal	klar

+ = Wachstum nur bis zur IV. Passage anaerob.

Tabelle VII

Anaerobe Züchtung von Diphtheriebakterien in Nährlösung II mit Fumarsäure, Bernsteinsäure, ohne Cystëin.

Stamm	I. Pass.	II. Pass.	III. Pass.	IV. Pass.
14 305 I	schwach trüb	opal	schwach opal	klar
14 816 III	schwach trüb	opal	schwach opal	klar
13 153 I +	trüb	trüb	schwach trüb	körnig. Satz
12 440 III	opal	opal	schwach opal	klar
11 649 III	opal	klar	—	—
13 921 III	schwach trüb	schwach trüb	opal	klar
11 645 I	schwach opal	klar	—	—
20 II	schwach opal	klar	—	—
24 II	schwach trüb	opal	opal	klar
36 III	opal	klar	—	—
11 I	mitteltrüb	schwach trüb	schwach opal	klar
15 I	schwach trüb	schwach opal	klar	—
17 I	opal	opal	opal	klar
22 II	mitteltrüb	schwach trüb	schwach opal	klar
30 III	schwach trüb	körnig	schwach opal	klar
13 I	schwach trüb	schwach trüb	schwach opal	klar
24 II	opal	opal	schwach opal	klar
92 I	opal	opal	schwach opal	klar

+ = Wachstum nur bis zur IV. Passage anaerob.

Stamm 13 153: Sehr vereinzelt kolbige, sehr kurze Stäbchen; keine typische Lagerung. Einzelne Haufen und punktförmige Degenerationsformen.

Stamm 14 305: Sehr zahlreiche Bakterien, teils länger und schlank, teils kurz und dick, typisch gelagert.

Stamm 12 440: Zahlreiche Bakterien, ziemlich kurz und dick, in Haufen liegend. Keine typische Lagerung, keine Verzweigungen.

Stamm 11 649: Typische Diphtheriebakterien, an den Enden kolbig verdickt. Auch lange schlanke Stäbchen, oft in typischen Gruppen.

Stamm 14 816: Sehr wenig Bakterien. Einige kurze plumpe Stäbchen.

Immerhin ergab sich schon in der II. und III. Passage — bei völliger Reinheit der Kulturen — ein Unterschied dahingehend, daß mit Cystëin alle Stämme gewachsen waren, während ohne Cystëin bereits sechs Stämme nicht mehr angingen.

Während unter aeroben Bedingungen, im I. Teil der Arbeit, am besten die Gravistypen, an zweiter Stelle die Mitis- und am schlechtesten die Intermediustypen in synthetischen Nährlösungen gewachsen waren, sind es bei den anaeroben Versuchen, sofern man bei der geringen Anzahl der angegangenen Stämme (s. Tabelle VI) überhaupt einen Vergleich ziehen kann, die Mitisstämme, nämlich vier, die gegenüber den drei Gravisstämmen ein besseres Wachstum zeigten. (Siehe Tabelle VIII.)

Es ist vielleicht noch erwähnenswert, daß die 6. Passagen der acht anaerob gewachsenen Stämme auf Meerschweinchen geimpft wurden, aber nicht pathogen wirkten. Wie aus Tabelle V im I. Teil der Arbeit (Seite 10) zu ersehen ist, wurde

Stamm 14 305 zweimal geprüft. Das Tier starb in keinem der beiden Fälle nach der Impfung mit der anaerob gewachsenen Passage.

Stamm 14 816 wurde zweimal geprüft. Das Tier blieb in beiden Fällen am Leben, ebenso nach der Impfung mit der anaerob gewachsenen Passage.

Stamm 13 153 wurde zweimal geimpft. Im ersten Fall blieb das Tier am Leben, nach dem zweitenmal starb es. Nach der Impfung mit der anaerob gewachsenen Passage blieb es leben.

Stamm 12 440 nicht geprüft, da er in Nährlösung I aerob nicht gewachsen ist. Auch hier blieb das Tier nach der Impfung mit der anaeroben Passage leben.

Stamm 11 649 ebenso wie 12 440.

Stamm 11 nur einmal geprüft, da das Tier nach der ersten Impfung am Leben blieb; ebenso nach der Impfung mit der anaerob gewachsenen Passage.

Stamm 36 ebenso wie 11.

Man kann wohl annehmen, daß sich die Virulenz dieser Stämme nach ihrem Durchgang durch sechs Passagen verringert hat. Die Beantwortung der Frage, ob sich die Virulenz der Stämme durch das Wachstum unter anaeroben Bedingungen verringert hat, oder ob die Tiere infolge der geringen Menge des ihnen injizierten Materials (es wurden 0,5 cm^3 gegeben

Tabelle VIII.

Das Verhalten der einzelnen Typen in den verschiedenen Nährlösungen unter aeroben, halb und streng anaeroben Bedingungen.

Typus gravis (I)	Aerobes Wachstum in Nährlösung I	Aerobes Wachstum in Nährlösung II	Halb anaerobes Wachstum in Nährlösung I	Streng anaerobes Wachstum in N II mit Fumar- u. Bernsteinsäure	Streng anaerobes Wachstum in N II mit Cystëin, Fumar- und Bernsteinsäure
11	Bis VI. Pass	Bis VI. Pass.	Bis VI. Pass.	Kein Wachstum	Bis VI. Pass.
13	„	„	„	„	Kein Wachstum
15	„	„	„	„	„
17	„	Kein Wachstum	„	„	„
92	„	Bis VI. Pass,	Kein Wachstum	„	„
76	„	„	Bis VI. Pass.	„	„
102	„	„	Kein Wachstum	„	„
14841	„	„	Bis VI. Pass.	„	„
14305	„	„	„	„	Bis VI. Pass.
11645	„	„	„	„	Kein Wachstum
13153	„	„	Kein Wachstum	Bis VI. Pass.	Bis VI. Pass.
15012	„	„	Bis VI. Pass.	Kein Wachstum	Kein Wachstum
Typus intermedius (II)					
20	Kein Wachstum	Kein Wachstum	Kein Wachstum	Kein Wachstum	Kein Wachstum
22	„	„	Bis VI. Pass.	„	„
24	„	„	„	„	„
26	„	„	Kein Wachstum	„	„
27	„	Bis VI. Pass.	„	„	„
28	Bis VI. Pass.	„	„	„	„
29	„	„	„	„	„
64	Kein Wachstum	„	„	„	„
Typus mitis (III)					
30	Bis VI. Pass.	Bis VI. Pass.	Kein Wachstum	Kein Wachstum	Kein Wachstum
33	„	„	„	„	„
36	„	„	„	„	Bis VI. Pass.
82	Kein Wachstum	„	Bis VI. Pass.	„	Kein Wachstum
11649	„	Kein Wachstum	„	„	Bis VI. Pass.
13546	Bis VI. Pass.	Bis VI. Pass.	„	„	Kein Wachstum
15085	„	Kein Wachstum	Kein Wachstum	„	„
13921	Kein Wachstum	„	„	„	„
12440	„	Bis VI. Pass.	Bis VI. Pass.	„	Bis VI. Pass.
12850	„	„	„	„	Kein Wachstum
14816	Bis VI. Pass.	„	„	„	Bis VI. Pass.

Tabelle IX.

Stamm	Nährlösg. I ohne Nitrat, halb anaerob VI. Passage	Nährlösg. I mit Nitrat, halb anaerob VI. Passage	Nährlösg. II ohne Nitrat, streng anaer. VI. Passage	Nährlösg. II mit Nitrat, streng anaer. VI. Passage	Nährlösg. II mit Cystëin, streng anaerob	Nährlösg. II mit Cystëin u. Na. Nitrat, streng anaer.	Nährlösg. II m. Fumar- und Bernsteinsäure ohne Cystëin	Nährlösg. II m. Fumar- u. Bernsteinsäure und Cystëin IV. Passage
14841 I	schw. opal	schw. opal	—	—	—	—	—	—
14305	opal, körn.	opal, körn.	—	—	—	—	—	opal, flock. S.
11645	opal	opal	—	—	—	—	—	—
13153	—	—	—	—	—	—	opal. körn. S.	opal, flock. S.
15012	opal, flock. S.	opal, flock. S.	—	—	—	—	—	—
11	schw. opal	schw. opal	—	—	—	—	—	körn. Satz
13	—	—	—	—	—	—	—	—
15	opal, körn. S.	opal, körn. S.	—	—	—	—	—	—
17	opal, körn. S	opal, körn. S.	—	—	—	—	—	—
92	—	—	—	—	—	—	—	—
102	—	—	—	—	—	—	—	—
76	opal	schw. trüb	—	—	—	—	—	—
20 II	—	—	—	—	—	—	—	—
22	opal	opal	—	—	—	—	—	—
24	opal, flock. S.	opal, flock. S.	—	—	—	—	—	—
26	—	—	—	—	—	—	—	—
27	—	—	—	—	—	—	—	—
28	—	—	—	—	—	—	—	—
29	—	—	—	—	—	—	—	—
64	—	—	—	—	—	—	—	—
14816 III	opal	opal	—	—	—	—	—	opal
12850	schw. trüb	schw. trüb	—	—	—	—	—	—
12440	opal	schw. trüb	—	—	—	—	—	opal
13921	—	—	—	—	—	—	—	—
15085	—	—	—	—	—	—	—	—
13546	opal, körn. S.	opal, körn. S.	—	—	—	—	—	—
11649	opal	opal	—	—	—	—	—	opal, körn. S.
30	—	—	—	—	—	—	—	—
33	—	—	—	—	—	—	—	—
36	—	—	—	—	—	—	—	opal, körn. S.

im Gegensatz zu der von mir injizierten Menge von 2 cm^3 der VI. Passage, was aus Tabelle V hervorgeht) am Leben blieben, ist im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich. Die letzte Tabelle zeigt die für die anaeroben Versuche variierten Nährlösungen mit den mehr oder weniger erfolgreich gewachsenen Stämmen. (Siehe Tabelle IX.)

Zusammenfassung des II. Teils.

I. Anaerobe Züchtung von Diphtheriebakterien gelang bei einer kleinen Anzahl von Stämmen in einer Nährlösung, wie sie von H. Braun angegeben wurde, mit einem Zusatz von Cystëin sowie Fumar- und Bernsteinsäure, letzteres nach Angaben von J. H. Quastel.

II. Die anaerob gewachsenen Stämme waren für Meerschweinchen nicht pathogen.

III. Unter anaeroben Verhältnissen sind in synthetischer Nährlösung am besten die Mitis-, an zweiter Stelle die Gravis- und (wie unter aeroben Bedingungen) am schlechtesten die Intermediustypen gewachsen.

Literaturverzeichnis.

H. Braun: Allgemeines über den Verwendungsstoffwechsel pathogener Bakterien. Zbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. 93 (1924).

H. Braun und C. Cahn-Bronner: Ueber die synthetischen Fähigkeiten pathogener Bakterien und ihr biologisches Verhalten unter einfachen Ernährungsbedingungen. Zbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. 86 H_1 (1921).

Ueber den Verwendungsstoffwechsel pathogener Bakterien. Klin. Wochenschrift 1. Jahrg. Nr. 37 (1922).

H. Braun und K. Hofmeier: Ueber den Verwendungsstoffwechsel der Diphtheriebazillen. Klin. Wochenschrift 6. Jahrg. Nr. 15 (1924).

H. Braun und F. Mündel: Zur Ernährungsphysiologie der Diphtheriebazillen.

I. Die Nahrungsbedürfnisse der Diphtheriebazillen in synthetischen Nährmedien in quantitativer Hinsicht. Zbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. 112 (1929).

II. Zur Ernährungsphysiologie der Diphtheriebazillen in synthetischen Nährmedien in qualitativer Hinsicht. Zbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. 113 (1929).

Dieselben: Ueber die Bedeutung des Cystins für die Züchtung der Diphtheriebazillen. Zbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. 103 (1927).

J. H. Quastel und M. Stephenson: The Relationship of B. sporogenes to Oxygene. The Biochemical Journal II. Bd. 1926.

W. Kollath: Anaerobe Di-Stämme bei „maligner Diphtherie?" Münch. med. Wochenschr. 41, 1934, II.

H. Schloßberger: Die Typen des Diphtheriebazillus. Referat auf der Tagung der Deutsch. Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin 1935. Zbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. 135 (1935) Heft 1/3.

Herrn Privatdozent Dr. Ehrismann danke ich für die freundliche Ueberlassung des Themas und für sein verständnisvolles Eingehen auf die während der Arbeit sich ergebenden Fragen. Weiter danke ich Herrn Professor Dr. Zeiß für die Erlaubnis, diese Arbeit im Hygienischen Institut der Friedrich-Wilhelms-Universität anfertigen zu dürfen.

Lebenslauf.

Als Tochter des Oberturnlehrers Bruno Hübsch und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Grundmann, bin ich am 5. August 1910 in Berlin-Neukölln geboren. Nach bestandener Reifeprüfung am Dorotheen-Oberlyzeum zu Berlin-Cöpenik im Jahre 1930 studierte ich an der Universität Berlin Zahnheilkunde. Am 25. Februar 1932 bestand ich die zahnärztliche Vorprüfung und am 21. Dezember 1934 das zahnärztliche Staatsexamen vor dem Prüfungsausschuß in Berlin mit dem Prädikat „gut". Meine Promotion erfolgte ebenfalls „cum laude" in Berlin im Februar 1936.

Freyhoff-Druck, Oranienburg